

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- **BLANK PAGES**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

03.09.99

日本国特許庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 22 OCT 1999

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1998年 9月 4日

出願番号

Application Number:

平成10年特許願第251450号

出願人

Applicant(s):

マルハ株式会社

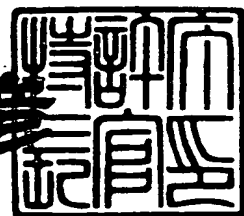
財団法人大阪バイオサイエンス研究所

PRIORITY
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年10月 8日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近藤 隆彦



出証番号 出証特平11-3067631

【書類名】 特許願

【整理番号】 P98-0438

【提出日】 平成10年 9月 4日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 33/50

【発明の名称】 腎疾患の検出および病態管理方法

【請求項の数】 7

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 1 6 - 2 マルハ株式会社 中央研
 究所内

 【氏名】 織田 浩司

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 1 6 - 2 マルハ株式会社 中央研
 究所内

 【氏名】 清水 興介

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 1 6 - 2 マルハ株式会社 中央研
 究所内

 【氏名】 中島 浩

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 1 6 - 2 マルハ株式会社 中央研
 究所内

 【氏名】 佐藤 信行

【発明者】

 【住所又は居所】 京都府京都市中京区西洞院通蛸薬師下ル古西町 4 4 0 藤
 和シティーコープ 7 0 6

 【氏名】 裏出 良博

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県横浜市旭区本村町 5 6 - 2 イーストパレス二

俣川 504 号

【氏名】 平和 伸仁

【発明者】

【住所又は居所】 東京都江戸川区清新町 1-1-6-1906

【氏名】 上原 馨志夫

【特許出願人】

【識別番号】 000003274

【氏名又は名称】 マルハ株式会社

【特許出願人】

【識別番号】 390000745

【氏名又は名称】 財団法人 大阪バイオサイエンス研究所

【代理人】

【識別番号】 100091096

【弁理士】

【氏名又は名称】 平木 祐輔

【選任した代理人】

【識別番号】 100096183

【弁理士】

【氏名又は名称】 石井 貞次

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015244

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9720380

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 腎疾患の検出および病態管理方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 被験者より採取した体液試料中のヒトリボカリン型プロスタグランジンD合成酵素濃度を測定し、その測定値を健常者より採取した体液試料中のヒトリボカリン型プロスタグランジンD合成酵素濃度の測定値から設定した基準値と比較することを特徴とする、腎疾患の早期検出方法。

【請求項 2】 被験者より採取した体液試料中のヒトリボカリン型プロスタグランジンD合成酵素濃度を測定し、その測定値から糸球体濾過能を評価することを特徴とする、腎疾患の病態管理方法。

【請求項 3】 体液試料中のヒトリボカリン型プロスタグランジンD合成酵素濃度の測定を、免疫学的測定法により行うことを特徴とする、請求項 1～2のいずれかに記載の方法。

【請求項 4】 腎疾患が糸球体病変を伴うものである、請求項 1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】 腎疾患が高血圧性腎障害、または脂質代謝異常性腎障害である、請求項 1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】 腎疾患が腎症である、請求項 1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】 腎疾患が糸球体腎炎、ネフローゼ症候群、糖尿病性腎症、腎硬化症、多発性嚢胞腎、または腎不全である、請求項 1～3のいずれかに記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、腎疾患の検出方法、詳しくは、既存の診断法では検出できない早期の腎疾患を検出することのできる腎疾患の早期検出方法、及び糸球体濾過能を簡便に評価することによる腎疾患の病態管理方法である。

【0002】

【従来の技術】

腎糸球体に病変を起こす糸球体腎炎や糖尿病性腎症をはじめとする腎疾患の診断、病態管理において、イヌリン、クレアチニンなどを対象としたクリアランス試験は、糸球体濾過能を評価する上で有用であるとされている。しかし、クリアランス試験では蓄尿が必要となり、またイヌリン等外因性物質の投与によるクリアランス試験では外因性物質の静脈注射が必要となるため、試験に要する時間や煩雑さの面から、その適用は明らかな腎疾患患者に限られていた。従って、腎疾患が疑われる、あるいは可能性のある患者の日常的な診断法としてクリアランス試験が用いられることは少なく、持続性蛋白尿の検出や血中クレアチニン濃度の測定によって診断が行われるケースが多かった。しかしながら、持続性蛋白尿の出現する時期や血中クレアチニン濃度の上昇する時期には、既に非可逆性の糸球体病変が進行していることも知られている（例えば、「腎臓学」、黒川清編、249-251頁、(1995)参照）。従って、持続性タンパク尿の検出や血中クレアチニン濃度の測定は、病変の初期段階を有効に検出できる手段とはなり得ない。

【0003】

近年、尿中に排泄される種々の蛋白質の測定が可能となり、特に尿中へのアルブミンやトランスフェリン排泄量の増加、即ち、微量アルブミン尿や微量トランスフェリン尿が持続性蛋白尿に先行することが明らかとなった。そこで現時点では、微量アルブミン尿や微量トランスフェリン尿の出現をもって腎疾患を診断することが一般化している。

【0004】

糖尿病性腎症及びそれ以外の腎症の病期分類としては、一般的には第1期（腎症前期）、第2期（早期腎症期）、第3期（顕性腎症期）、第4期（腎不全期）、第5期（透析療法期）に分類される。微量アルブミン尿や微量トランスフェリン尿を呈する時期は、上記のうち第2期（早期腎症期）に該当し、病理学的には、この時期には既に軽度から中等度のびらん性病変が存在し、結節性病変の存在も知られている。従って、必ずしも初期腎症とは限らず、第2期（早期腎症期）は、あくまでも現在の臨床検査で診断可能な時期と解されている。これに対し、

微量アルブミン尿や微量トランスフェリン尿を呈する以前の第1期（腎症前期）に生ずる異常については事実上腎生検でしか検出できないと考えられる。しかしながら、腎生検は侵襲的であるが故、苦痛や危険性を伴い、また検査開始から結果が出るまでに多大な手間や時間がかかる。よって、このような微量アルブミン尿や微量トランスフェリン尿を呈する以前の異常を、非侵襲的に検出できる簡便な検査法の開発が望まれるところである。

【0005】

一方、ヒトリポカリン型プロスタグランジンD合成酵素（以下L-PGDS）は、各種プロスタグランジン類の共通の前駆体であるPGH₂から、睡眠誘発作用をはじめとした各種生理作用を示すPGD₂への異性化を触媒する酵素である（Urade, Y., Fujimoto, N., and Hayaishi, O., J. Biol. Chem., 260, 12410-12415, 1985、Urade, Y., Watanabe, K., and Hayaishi, O., J. Lipid Mediator Cell Signaling, 12, 257-273, 1995）。近年、このL-PGDSが、ヒト脳脊髄液(CSF)中に多量に存在することが知られていたβ-トレースと同一であることが明らかにされた（Hoffmann, A., Conradt, H., S., Gross, G., Nimitz, M., Lottspeich, F., and Wurster, U., J. Neurochem., 61, 451-456, 1993、Zahn, M., Mader, M., Schmidt, B., Bollensen, E., and Felgenhauer, K., Neurosci. Lett., 154, 93-95, 1993、Watanabe, K., Urade, Y., Mader, M., Murphy, C., and Hayaishi, O., Biochem. Biophys. Res. Commun., 203, 1110-1116, 1994）。

【0006】

L-PGDSがまだβ-トレースと呼ばれていた1969年に、Ericssonらは腎疾患とβ-トレース（L-PGDS）の関連性を示唆する論文を発表している（Ericsson, J., Link, H., and Zettervall, O., Neurology, 19, 606-610, 1969）。即ち、当時の測定法は技術的に未熟であったため、健常者の血中及び尿中ではL-PGDSが検出できなかったが、血中クレアチニン濃度及びクレアチニンクリアランスに異常が認められる慢性腎炎をはじめとする腎疾患患者の血中及び尿中ではL-PGDSが検出され、これら患者でその濃度が上昇することが示唆された。また、Felgenhauerらも、健常者では検出されない血中L-PGDSが、1例のみであるが腎不全患者において検出されたと報告している（Felgenhauer, K., Schadlich, H., J., and Neki

c, M., Klin. Wochenschr., 65, 764-768, 1987)。これに対して、Whitsedらは、より高感度の測定法を開発し、健常者とタンパク尿を呈する腎疾患患者の尿中L-PGDS濃度(24時間当たりの排泄量)を比較したが、腎疾患患者が必ずしも高濃度のL-PGDSを示すとは限らないとの報告を行っている(Whitsed, H. and Penny, R., Clin. Chim. Acta, 50, 111-118, 1974)。このように、研究者によって腎疾患とL-PGDSの相関性について意見が分かれているのは、これらの報告で用いている測定法がポリクローナル抗体を用いた古典的な免疫学的方法に基づく半定量的なものであるためであると考えられる。最近、ドイツのHoffmannらは、より定量性の高い測定系を用いて、末期腎不全である透析療法期の患者の血中L-PGDS濃度が、健常者と比べ著しく上昇していること確認した(Hoffmann, A., Nimitz, M., and Conradt, H., S., Glycobiology, 7, 499-506, 1997)。しかしながら、彼らの測定法では特異性を明らかにしたモノクローナル抗体を用いているものの、血液試料からL-PGDSを精製した後、ウェスタンブロッティングを行い、バンドの濃さを比較するという煩雑な方法であるため、小さな濃度差を正確に比較することはやはり困難であると考えられる。

【0007】

このように、これまでに行われてきた腎疾患とL-PGDS(β -トレース)の相関性に関する検討は、何れも、クレアチニンの動態に異常を示す、タンパク尿を呈する、透析療法期である、といったように、既存の検査手段で腎疾患が明らかに進展していることを確認した患者を対象にして、L-PGDSの著しい濃度上昇を検出したに過ぎない。これに対し、腎疾患が進展する以前のL-PGDS濃度に関する検討はこれまで全くなされていなかった。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の課題は、これまでの腎疾患に対する種々の検査手段では検出することのできなかった早期腎症期以前に生ずる腎異常を、正確に且つ被験者の負担が少なく検出することのできる方法を提供することにある。更に、これまで時間や手間のかかるクリアランス試験によって評価していた糸球体濾過能を、簡便且つ短時間に評価することのできる方法を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、血液、尿等の体液中L-PGDS濃度を測定し、その測定値を指標とすることより、疾患がある程度進展した早期腎症期以前の腎疾患を発見することができることを見出し、更に、その測定値を指標にすることにより、腎疾患患者の病態管理を行えることを見出し、本研究を完成させるに至った。

【0010】

即ち、本発明は、被験者より採取した体液試料中のL-PGDSを測定し、その測定値を健常者より採取した体液試料中のL-PGDS濃度の測定値から設定した基準値と比較することを特徴とする、腎疾患の早期検出方法である。

本発明はまた、被験者より採取した体液試料中のヒトリポカリン型プロスタグランジンD合成酵素濃度を測定し、その測定値から糸球体濾過能を評価することを特徴とする、腎疾患の病態管理方法である。

以下本発明を詳細に説明する。

【0011】

【発明の実施の形態】

本発明において、L-PGDSを測定する試料は、被験者から採取した体液であり、具体的には、血液、尿、羊水等が挙げられる。

【0012】

上記試料中のL-PGDS濃度を測定する方法としては、L-PGDS濃度を正確に反映する測定法であれば特に限定はされず、例えば免疫学的測定法、酵素活性測定法が挙げられる。しかしながら、実際の臨床現場において、簡便に且つ多量の試料を同時に測定する必要性の観点から、L-PGDSに特異的なモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体を用いたEIA、ELISA、RIA、FIA等の免疫学的測定法によるのが好適である。

【0013】

上記の免疫学的測定法のうち、特に、L-PGDS特異的モノクローナル抗体を使用したサンドイッチELISA法が好ましく、該モノクローナル抗体としては、具体的

には、ハイブリドーマ細胞株1B7 (FERM BP-5709)、7F5 (FERM BP-5711)、6F5 (FERM BP-5710)、9A6 (FERM BP-5712)、10A3 (FERM BP-5713) より産生される抗体が挙げられる。

サンドイッチELISA 法による測定に際しては、既に本発明者らにより確立されている、上記モノクローナル抗体を含むL-PGDS検出キットを利用すればよい（特願平8-221530号）。

【0014】

本発明においては、上記手段で測定されたL-PGDS濃度測定値を指標として腎疾患を早期に検出し、また当該測定値から糸球体濾過能を評価することによって、腎疾患の病態を管理することができる。

【0015】

腎疾患を検出するには、上記手段で測定した被験者の体液試料中のL-PGDS濃度測定値を健常者の体液試料中のL-PGDS濃度より設定した基準値と比較する。具体的には、健常者の平均値を越える者、または平均値 + ($\alpha \times$ 標準偏差) [ここで、 α は 0.5, 1, 2, 5 など] を越える者を陽性と判定することによって行う。

【0016】

また、腎疾患の病態を管理するには、上記手段で測定した被験者の体液試料中のL-PGDS濃度測定値から糸球体濾過能を評価することによって行う。

本発明において、病態の管理とは、病状（重篤度の程度）の把握、予後の観察をいう。

【0017】

本発明の方法により検出され、または病態の管理が行える腎疾患としては、例えば、糸球体病変を伴うもの、高血圧性腎障害、脂質代謝異常性障害などが挙げられ、具体的には腎症など、さらに具体的には、糸球体腎炎、ネフローゼ症候群、糖尿病性腎症、腎硬化症、多発性嚢胞腎、または腎不全などが挙げられる。

以下に、本発明を実施例により更に詳細に説明するが、本発明の範囲はこれら実施例に何ら限定されるものではない。

【0018】

【実施例】

〔参考例〕（健常者の血中および尿中L-PGDS濃度の測定と基準値の設定）

健常者から採取した血液（血清）および随時尿について、これら体液試料におけるL-PGDS濃度を2抗体サンドイッチELISA法により測定し、基準値の設定を行った。

【0019】

（1）標準曲線の作成

まず、hPGDSと結合可能な抗L-PGDSモノクローナル抗体（クローン：7F5）を50 mM炭酸緩衝液（pH 9.6）に4.4 μ g/mlになるように希釈し、96ウエルマイクロタイタープレートに300 μ l/ウエルずつ加えて、4℃で一晩放置し固相化した。このプレートをリン酸緩衝生理食塩水（pH 7.4、以下PBS）で3回洗浄した後、0.2%カゼインを含むPBS（pH 7.4、以下ブロッキング液）を300 μ l/ウエル加えて30℃で90分インキュベートし、ブロッキングを行った。

次いで、ブロッキング後のプレートを0.05%Tween20を含むPBS（T-PBS）で3回洗浄した後、100 μ lの標準L-PGDS溶液（CSFより純化したL-PGDSをブロッキング液で段階希釈することにより調製）を各ウエルに加え、30℃で90分間インキュベートした。反応後、T-PBSで3回洗浄し、ブロッキング液で0.5 μ g/mlになるように希釈した西洋ワサビペルオキシダーゼ標識化抗PGDSモノクローナル抗体（クローン：1B7）100 μ lを各ウエルに加え、30℃で90分間インキュベートした。T-PBSで3回洗浄した後、発色液（ABTS solution：ベーリンガー・マンハイム社製）100 μ lを各ウエルに加え、30℃で30分間インキュベートした後、停止液（1.5%シュウ酸）を100 μ lずつウエルに加え、プレートミキサーで攪拌して反応を停止させた。市販のプレートリーダー（型番 Sk601、生化学工業社製）により405nmと490nmにおける吸光度の差（A405nm-A490nm）を測定し、標準曲線を作成した。

【0020】

上記サンドイッチELISA法に用いたモノクローナル抗体（クローン：1B7、7F5）は、マウス腹腔内にプリスタン1.0mlを注射し、その後2週間目にそれぞれの抗体産生細胞株を 1×10^8 個マウスの腹腔内に移植し、2週間後に腹水を採取し、得

られた腹水をプロテインAアフィニティーカラムクロマトグラフィー操作にかけることにより得た (3~10mg/ml)。

尚、上記モノクローナル抗体を産生する細胞株はそれぞれ上記モノクローナル抗体名に一致し、それぞれの細胞株は、工業技術院生命工学工業技術研究所（日本国茨城県つくば市東1丁目1番3号）に、1B7についてはFERM BP-5709（原寄託日平成7年9月21日）、7F5についてはFERM BP-5711（原寄託日平成8年6月6日）として寄託されている。

【0021】

（2）試料中のL-PGDS濃度の測定

血液は192例、随時尿は56例を用い、それぞれブロッキング液で適宜希釈して、上記のサンドイッチELISA法に従ってL-PGDS濃度を測定した。

測定の結果、健常者によって得られた基準値は、血中では $0.848 \pm 0.186 \mu\text{g/ml}$ であった（平均±標準偏差、以下同様）。随時尿を用いた検討では、採尿時の尿の濃さの違いによる影響を考慮して、尿中クレアチニン濃度による換算を行い、尿中L-PGDS指数（L-PGDS/g-creatinine）として表すこととした。その結果、健常者によって得られた尿中L-PGDS指数の基準値は、 $2.44 \pm 1.86 \text{mg/g-creatinine}$ であった。

【0022】

以下の各実施例において、体液試料（血液、尿）中のL-PGDSの測定は参考例の方法に従い、クレアチニンの測定はアルカリピクリン酸法、尿中アルブミンの測定はラテックス凝集法によって行った。また、尿試料は随時尿を用いたため、濃度差を考慮して、尿中クレアチニンによる換算を行った（尿中L-PGDS指数：L-PGDS/g-creatinine、尿中アルブミン指数：アルブミン/g-creatinine）。

【0023】

【実施例1】（血中クレアチニンおよび尿中アルブミンとの相関性）

内科外来患者118名を対象として、血中L-PGDS濃度と血中クレアチニン濃度、および尿中L-PGDS指数と尿中アルブミン指数を測定し、その相関性を検討した。結果を図1に示す。

図1に示されるように、血中L-PGDS濃度と血中クレアチニン濃度、および尿中

L-PGDS指数と尿中アルブミン指数は、共に高い相関性を示した。従って、L-PGDSは、血中クレアチン濃度または尿中アルブミン指数に匹敵する腎疾患診断の指標となり得ることが明らかとなった。

【0024】

〔実施例2〕（各種腎疾患患者におけるL-PGDS濃度の変化）

腎疾患患者42名（慢性腎不全：11名、糸球体腎炎：23名、多発性嚢胞腎：8名）を対象として、血中L-PGDS濃度および尿中L-PGDS指数の測定を行った。同時に血液試料に関しては血中クレアチニン濃度を、尿試料に関しては尿中アルブミン指数を測定した。結果を図2に示す。

図2に示されるように、全ての腎疾患において血中L-PGDS濃度および尿中L-PGDS指数が健常者に対し有意に増加することが明らかとなった。また、血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン指数も上昇したが、L-PGDSの方がより健常者との有意差が大きく、L-PGDSは血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン指数よりも優れた腎疾患診断の指標となり得るといえる。

【0025】

〔実施例3〕（糖尿病患者におけるL-PGDS濃度の変化）

糖尿病患者55名を対象として、血中L-PGDS濃度および尿中L-PGDS指数の測定を行った。同時に血液試料に関しては血中クレアチニン濃度を、尿試料に関しては尿中アルブミン指数を測定した。患者を糖尿病歴によって分類した（5年未満：22名、5年以上10年未満：19名、10年以上：14名）結果を図3に示す。

図3に示されるように、血中L-PGDS濃度および尿中L-PGDS指数はともに病歴が長くなるに従って上昇することが判明した。また、血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン指数も病歴が長くなるほどに上昇したが、L-PGDSの方がより健常者との有意差が大きかった。糖尿病では腎症を合併しやすいことから、L-PGDSは血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン指数よりも優れた腎症移行の指標となり得るといえる。

【0026】

〔実施例4〕（糖尿病患者における追跡調査）

実施例3において、糖尿病歴が10年以上であり、血中クレアチニン濃度、尿中

アルブミン指数とも正常値を示したが、血中L-PGDS濃度および／または尿中L-PGDS指数が異常値を示した患者6名に関して、2年間の追跡調査を行った。尚、L-PGDS濃度の異常は健常者の平均値＋（2×標準偏差）を越える者（血中：1.22 μ g/ml、尿中：6.16mg/g-creatinine）とし、血中クレアチニン濃度の異常は1.0mg/dlを越える者、尿中アルブミン指数の異常は30mg/g-creatinineを越える者とした。結果を表1に示す。

【0027】

【表1】

糖尿病患者における追跡調査

	被験者1	被験者2	被験者3	被験者4	被験者5	被験者6
〔試験開始時〕						
血中クレアチニン 濃度(mg/dl)	0.9	1.0	0.8	0.7	0.9	0.7
尿中アルブミン 指数(mg/g-creatinine)	15.9	28.8	15.2	19.4	8.8	10.1
血中L-PGDS濃度 (μ g/ml)	1.86 *	1.69 *	1.25 *	1.06	0.70	0.94
尿中L-PGDS指数(mg/g-creatinine)	13.66*	12.21*	5.79	14.94*	7.05 *	9.80 *
〔2年後〕						
血中クレアチニン 濃度(mg/dl)	1.3 *	5.5 *	3.4 *	0.6	1.1 *	0.7
尿中アルブミン 指数(mg/g-creatinine)	64.9 *	373.8 *	269.0 *	29.1	103.2 *	8.8
血中L-PGDS濃度 (μ g/ml)	2.03 *	6.91 *	1.73 *	1.14	1.37 *	1.12
尿中L-PGDS指数(mg/g-creatinine)	14.60*	17.57*	19.59*	5.10	7.75 *	6.72 *

* 異常値

【0028】

表1に示されるように、試験開始時には6名全員が血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン指数とも正常値を示したが、2年後には6名中4名で血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン指数ともに異常値を示し、腎症を併発していることが明らかとなった。このことは、現在の臨床診断で検出不可能な極めて初期の腎症を、L-PGDS濃度測定によって検出することが可能であることを示しており、その濃度測定値が健常者の平均値＋（2×標準偏差）を越える者を陽性と判断することが適していることが明らかとなった。

【0029】

〔実施例5〕（内科外来患者における追跡調査）

実施例 1 において、血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン指数はともに正常値を示したが、血中L-PGDS濃度および／または尿中L-PGDS指数が異常値を示した患者 8 名に関して、2 年間の追跡調査を行った。尚、L-PGDS濃度の異常値は健常者の平均値 + (2 × 標準偏差) を越える者（血中：1.22 μ g/ml、尿中：6.16mg/g-creatinine）とし、血中クレアチニン濃度の異常は1.0mg/dlを越える者、尿中アルブミン指数の異常は30mg/g-creatinineを越える者とした。結果を表 2 に示す。

【0030】

【表 2】

内科外来患者における追跡調査								
	被験者 1	被験者 2	被験者 3	被験者 4	被験者 5	被験者 6	被験者 7	被験者 8
〔試験開始時〕								
血中クレアチニン 濃度(mg/dl)	0.7	0.9	1.0	0.7	0.7	0.8	0.6	0.6
尿中アルブミン 指数(mg/g-creatinine)	9.5	10.0	22.1	12.3	5.8	20.5	15.9	8.8
血中L-PGDS濃度 (μ g/ml)	2.03 *	1.68 *	1.88 *	1.39 *	0.89	0.79	1.20	1.03
尿中L-PGDS指数(mg/g-creatinine)	16.51 *	8.87 *	15.55 *	5.44	6.74 *	11.94 *	14.58 *	7.62 *
〔2年後〕								
血中クレアチニン 濃度(mg/dl)	1.2 *	0.8	3.2 *	2.7 *	1.2 *	1.3 *	0.9	0.7
尿中アルブミン 指数(mg/g-creatinine)	47.2 *	9.5	523.3 *	633.7 *	349.0 *	98.5 *	14.0	7.0
血中L-PGDS濃度 (μ g/ml)	1.38 *	1.16	2.08 *	3.21 *	1.61 *	1.23 *	1.07	0.93
尿中L-PGDS指数(mg/g-creatinine)	7.93 *	9.27 *	16.52 *	22.74 *	9.60 *	17.77 *	13.41 *	5.72

* 異常値

【0031】

表 2 に示されるように、試験開始時には 8 名全員が血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン指数ともに正常値を示していたが、2 年後には 8 名中 5 名で血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン指数ともに異常値を示し、腎疾患を発症していることが明らかとなった。このことは、現在の臨床診断で検出不可能な極めて初期の腎疾患を、L-PGDS濃度測定によって検出することが可能であることを示しており、その濃度測定値が健常者の平均値 + (2 × 標準偏差) を越える者を陽性と判断することが適していることが明らかとなった。

【0032】

〔実施例 6〕（糸球体病変の病態管理）

糸球体腎炎患者および慢性腎不全患者 11 名を対象として、24 時間クレアチニン

クリアランスと血中L-PGDS濃度および尿中L-PGDS指数の測定を行った。尚、尿中L-PGDS指数の測定には随時尿を用いた。結果を図4に示す。

図4に示されるように、血中L-PGDS濃度および尿中L-PGDS指数は、共にクレアチニンクリアランスと高い相関性を示し、L-PGDS濃度測定は糸球体濾過能の評価に有用であることが明らかとなった。L-PGDSの測定には蓄尿や外因性クリアランス物質の投与が必要でないため、本法により糸球体病変の病態管理を簡便に行うことが可能となった。

【0033】

【発明の効果】

本発明によれば、糸球体腎炎、糖尿病性腎症などの腎糸球体に病変を有する腎疾患の指標として現在用いられている血中クレアチニンや尿中アルブミンよりも顕著に腎異常を検出することのできる方法が提供される。しかも、本発明方法は、血中クレアチニンや尿中アルブミンで異常を示さない、現在の臨床診断で検出不可能な早期腎症期以前の腎疾患をも、極めて正確に且つ被験者の負担を少なく検出できる。更に、本発明方法により、蓄尿や外因性クリアランス物質の投与を必要とせず、糸球体濾過能の評価を簡便に行うことができる。従って、本発明方法は、腎疾患の早期発見と、患者の病態管理に極めて有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】

血中L-PGDS濃度と血中クレアチニン濃度の相関性 (A)、および尿中L-PGDS指数と尿中アルブミン指数の相関性 (B) を示す。

【図2】

各種腎疾患患者における血中L-PGDS濃度と血中クレアチニン濃度 (A)、および尿中L-PGDS指数と尿中アルブミン指数 (B) を示す。

【図3】

血中L-PGDS濃度・血中クレアチニン濃度と糖尿病歴の相関性 (A)、および尿中L-PGDS指数・尿中アルブミン指数と糖尿病歴の相関性 (B) を示す。

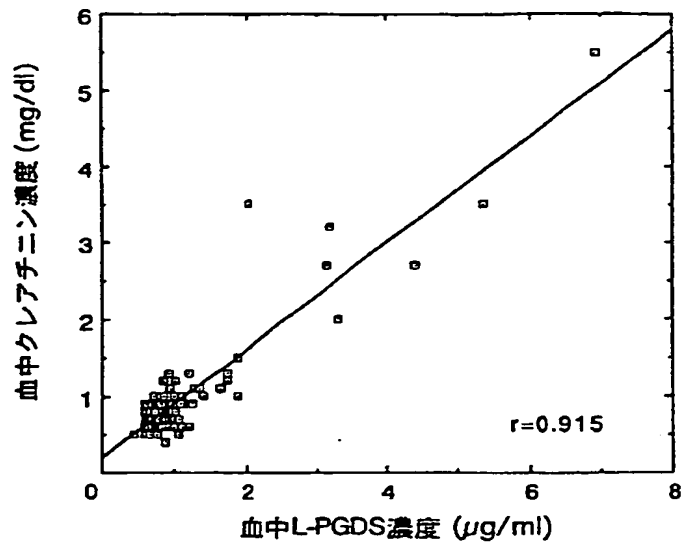
【図4】

血中L-PGDS濃度とクレアチニンクリアランスの相関性 (A)、および尿中L-PGD

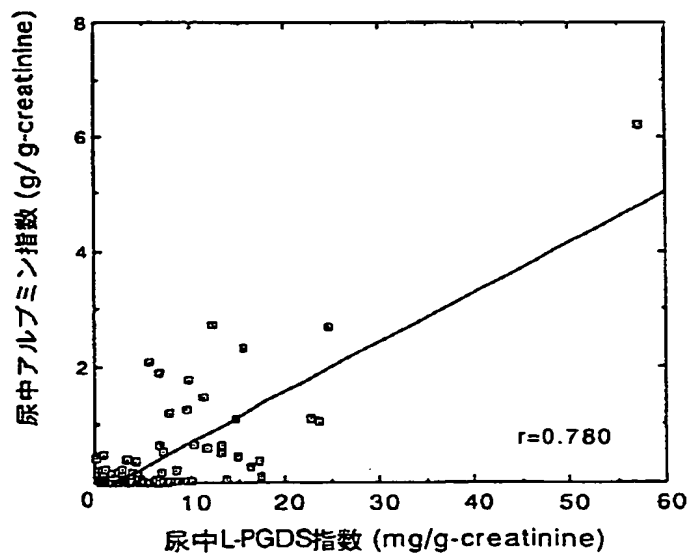
.....S指数とクレアチニンクリアランスの相関性 (B).....を示す。

【書類名】 図面

【図1】

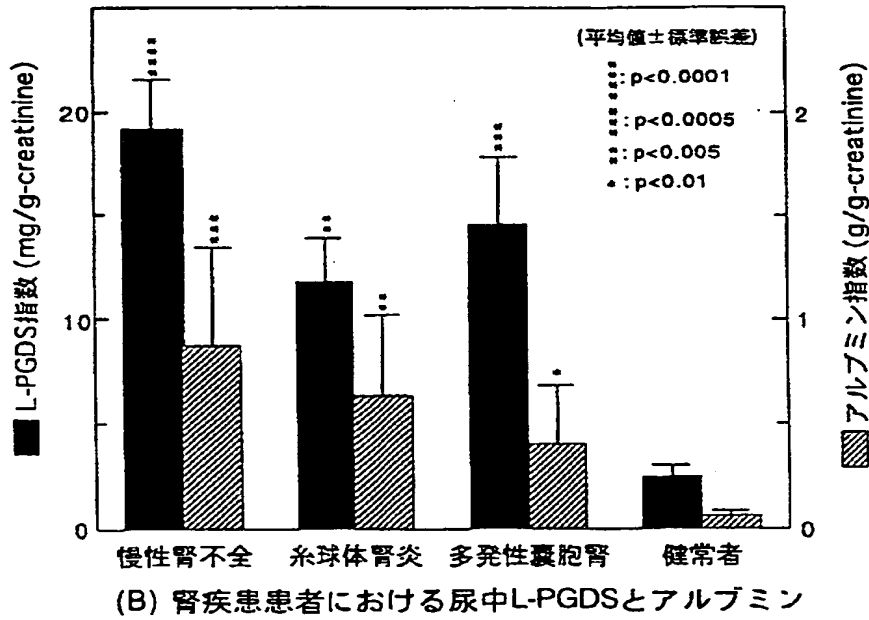
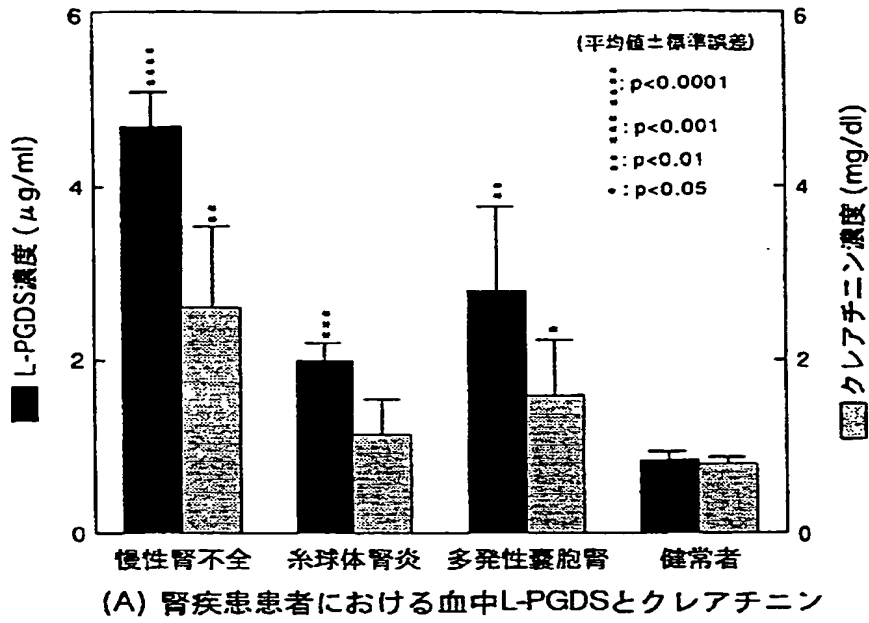


(A) 血中クレアチニンとの相関性

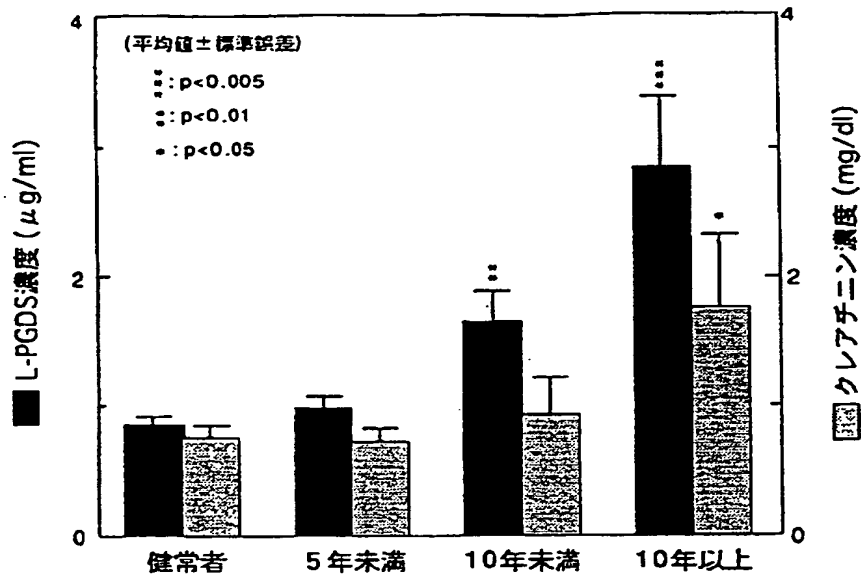


(B) 尿中アルブミンとの相関性

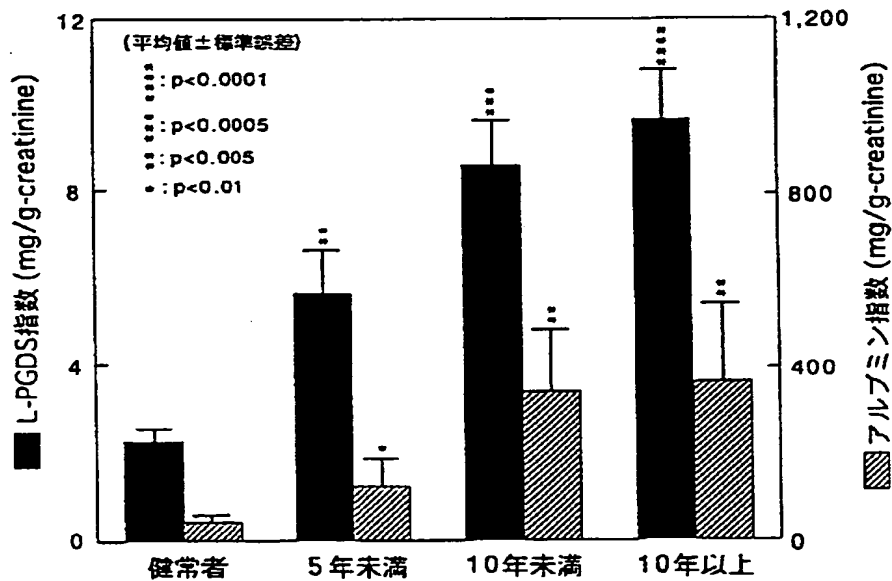
【図2】



【図3】

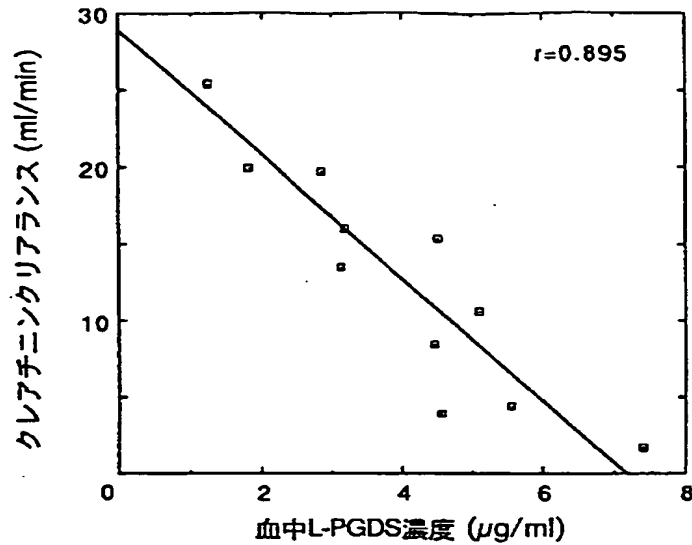


(A) 血中L-PGDS・クレアチニンと糖尿病歴の関係

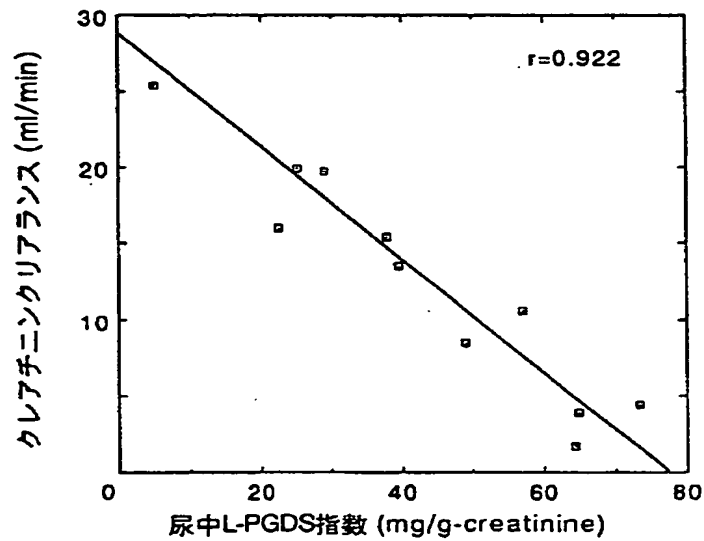


(B) 尿中L-PGDS・アルブミンと糖尿病歴の関係

【図 4】



(A) 血中L-PGDSとクレアチニンクリアランスの相関性



(B) 尿中L-PGDSとクレアチニンクリアランスの相関性

【書類名】 要約書

【要約】

【解決手段】 被験者より採取した体液試料中のヒトリボカリン型プロスタグランジンD合成酵素濃度を測定し、その測定値を健常者より採取した体液試料中のヒトリボカリン型プロスタグランジンD合成酵素濃度の測定値から設定した基準値と比較することを特徴とする、腎疾患の早期検出方法、および被験者より採取した体液試料中のヒトリボカリン型プロスタグランジンD合成酵素濃度を測定し、その測定値から糸球体濾過能を評価することを特徴とする、腎疾患の病態管理方法。

【効果】 本発明によれば、糸球体腎炎、糖尿病性腎症などの腎糸球体に病変を有する腎疾患の指標として現在用いられている血中クレアチニンや尿中アルブミンよりも顕著に腎異常を検出することのできる方法が提供される。しかも、本発明方法は、血中クレアチニンや尿中アルブミンで異常を示さない、現在の臨床診断で検出不可能な早期腎症期以前の腎疾患をも、極めて正確に且つ被験者の負担を少なく検出できる。更に、本発明方法により、蓄尿や外因性クリアランス物質の投与を必要とせず、糸球体濾過能の評価を簡便に行うことができる。従って、本発明方法は、腎疾患の早期発見と、患者の病態管理に極めて有用である。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000003274
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町1丁目1番2号
【氏名又は名称】 マルハ株式会社

【特許出願人】

【識別番号】 390000745
【住所又は居所】 大阪府吹田市古江台6丁目2番4号
【氏名又は名称】 財団法人大阪バイオサイエンス研究所

【代理人】

申請人

【識別番号】 100091096
【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門1丁目17番1号 虎ノ門5森ビル3階平木国際特許事務所
【氏名又は名称】 平木 祐輔

【選任した代理人】

【識別番号】 100096183
【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門1丁目17番1号 虎ノ門5森ビル3階平木国際特許事務所
【氏名又は名称】 石井 貞次

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000003274]

1. 変更年月日 1993年10月 7日

[変更理由] 名称変更

住 所 東京都千代田区大手町1丁目1番2号

氏 名 マルハ株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [390000745]

1. 変更年月日 1990年 9月21日
[変更理由] 新規登録
住 所 大阪府吹田市古江台6丁目2番4号
氏 名 財団法人大阪バイオサイエンス研究所